

安徽省水稻纹枯病菌对吡唑醚菌酯的敏感性及其与不同杀菌剂间的交互抗性

檀立, 汪章勋, 张立新, 李淼, 檀根甲*

安徽农业大学, 植物保护学院, 安徽 合肥

收稿日期: 2021年10月25日; 录用日期: 2021年11月23日; 发布日期: 2021年11月30日

摘要

采用菌丝生长速率法测定了该省15个地区的94株水稻纹枯病菌菌株对吡唑醚菌酯的敏感性, 以明确安徽省水稻纹枯病菌*Rhizoctonia solani*对吡唑醚菌酯的敏感性及其与不同杀菌剂间的交互抗性, 结果表明, 供试94株水稻纹枯病菌菌株对吡唑醚菌酯具有较高的敏感性, 所有菌株的有效抑制中浓度 EC_{50} 在0.0409~1.2266 $\mu\text{g/mL}$ 之间, 平均值为0.2721 $\mu\text{g/mL}$, 其敏感性频率呈连续单峰曲线分布, 符合正态分布, 因此可将 EC_{50} 平均值0.2721 $\mu\text{g/mL}$ 作为安徽省水稻纹枯病菌对吡唑醚菌酯的敏感基线; 15个地区的菌株群体对吡唑醚菌酯的敏感性差异显著, 同一地区的菌株个体间差异较大; 吡唑醚菌酯与噻呋酰胺、丙硫菌唑及井冈霉素之间均不存在交互抗性。

关键词

水稻纹枯病菌, 吡唑醚菌酯, 敏感基线, 交互抗性

Sensitivity of Rice Sheath Blight Pathogen *Rhizoctonia solani* to Pyraclostrobin and Cross-Resistance against Diverse Fungicides in Anhui Province

Li Tan, Zhangxun Wang, Lixin Zhang, Miao Li, Genjia Tan*

*通讯作者。

文章引用: 檀立, 汪章勋, 张立新, 李淼, 檀根甲. 安徽省水稻纹枯病菌对吡唑醚菌酯的敏感性及其与不同杀菌剂间的交互抗性[J]. 农业科学, 2021, 11(11): 1079-1085. DOI: 10.12677/hjas.2021.1111147

Abstract

To determine the sensitivity of rice sheath blight pathogen *Rhizoctonia solani* to Pyraclostrobin, and evaluate the cross-resistance between Pyraclostrobin and other fungicides, a total of 94 *R. solani* isolates collected from 15 regions in Anhui Province were used for testing their sensitivity to Pyraclostrobin using mycelial growth method. The tested isolates were highly sensitive to Pyraclostrobin, and the EC₅₀ of these isolates to Pyraclostrobin were in the range of 0.0409~1.2266 µg/mL, with the mean value of 0.2721 µg/mL. The frequency curve of Pyraclostrobin was continuous and unimodal, and followed the normal distribution. Hence, the mean EC₅₀ of 0.2721 µg/mL could be served as the baseline sensitivity of *R. solani* to Pyraclostrobin in Anhui Province. There was significant difference in the sensitivity to Pyraclostrobin among *R. solani* populations from 15 regions; there was an obvious difference in the sensitivity to Pyraclostrobin among individual isolate from same regions in Anhui Province. There was no notable evidence of positive cross-resistance between Pyraclostrobin and Jingtangmycin, thifluzamide and prothioconazole.

Keywords

Rhizoctonia solani, Pyraclostrobin, Baseline Sensitivity, Cross-Resistance

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

水稻纹枯病是一种全球性的真菌病害[1]。近年来,由于耕作方式的革新和矮秆品种的推广,以及化学肥料,尤其是氮肥的施用过量和防治不及时等原因,导致水稻的发病率与日俱增,危害性也越来越严重[2][3]。在缺乏高抗纹枯病的水稻品种的情况下,化学防治仍是控制水稻纹枯病的主要方法,目前,防治水稻纹枯病的药剂主要有井冈霉素、噻呋酰胺、丙环唑、烯唑醇和咪鲜胺等杀菌剂,但由于长期单一使用致使菌株对其敏感性下降。井冈霉素在某一地区的长期连续使用,已经出现了抗药性菌株[4]。近些年同样发现了对噻呋酰胺产生抗药性的菌株。采用紫外诱变的方法已获得了小麦纹枯病菌和水稻纹枯病菌对噻呋酰胺敏感性下降的菌株[5][6]。因此,在水稻纹枯病防治上有必要筛选新型有效杀菌剂作为噻呋酰胺等杀菌剂的替代或轮换药剂。

吡唑醚菌酯是 BASF 公司于 1993 年研制的一种新型甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂,具有广谱、高效的抑菌活性,且对环境友好。吡唑醚菌酯不仅可以高效的杀死病原菌,还是一种植物保健品,是首个以“植物健康作用”登记的产品。能诱导农作物的生理变化,促进植物正向的自我调节,刺激植物产生抵抗蛋白,从而对农作物起到保护和治疗的作用。亦能在一定程度上提高作物产量和质量[7][8]。关于水稻纹枯病病菌对吡唑醚菌酯的敏感性及其它杀菌剂间交互抗性的研究贵州省已有报道[9],但安徽省尚未见报道。本文从安徽省稻田分离水稻纹枯病菌菌株,测定吡唑醚菌酯对 *Rhizoctonia solani* 的毒力并建立敏感基线,明确吡唑醚菌酯与不同作用机制杀菌剂之间的交互抗性,以期合理选择和使用化学药剂防治水

稻纹枯病以及 *R. solani* 对吡唑醚菌酯的田间抗性监测提供科学依据。

2. 材料与方法

2.1. 材料

2.1.1. 供试菌株

2018 年从安徽省各地稻田采集水稻纹枯病病样, 经组织分离纯化和鉴定共获得 94 株水稻纹枯病菌 (*Rhizoctonia solani*) 菌株。其中巢湖(CH) 5 株, 郎溪(LX) 2 株, 凤台(FT) 4 株, 绩溪(JX) 6 株, 休宁(XN) 13 株, 庐江(LJ) 8 株, 宁国(NG) 9 株, 和县(HX) 6 株, 广德(GD) 6 株, 无为(WW) 7 株, 贵池(GC) 6 株, 蚌埠(BB) 2 株, 望江(WJ) 13 株, 凤阳(FY) 2 株。供试菌株采用滤纸片法保存于 -20°C 冰箱中备用。

2.1.2. 供试药剂

98%吡唑醚菌酯原药(安徽辉隆集团银山药业), 43%井冈霉素粗粉(利民化工股份有限公司), 95%噻呋酰胺原药(安徽辉隆集团银山药业), 98.7%丙硫菌唑原药(安徽久易农业)。

2.2. 方法

2.2.1. 水稻纹枯病菌对吡唑醚菌酯敏感性的测定

采用菌丝生长速率法[9]测定吡唑醚菌酯对安徽省 15 个地区的水稻纹枯病菌的毒力。用甲醇溶解吡唑醚菌酯原药, 配制成 $10,000\ \mu\text{g/mL}$ 的母液, 通过预实验确定各个药剂的浓度梯度, 再按 1:9 的比例加入到 PDA 培养基中。制成 $0.01\ \mu\text{g/mL}\sim 5\ \mu\text{g/mL}$ 等 5 个浓度梯度的含药 PDA 平板。将 28°C 培养 2 d 的各供试菌株 PDA 平板, 用直径 5 mm 打孔器制成菌碟, 接种 1 片菌碟于含不同浓度药剂的 PDA 平板中央, 以不含药的 PDA 平板为对照。每药剂浓度处理 4 次重复。 28°C 黑暗培养 2 d 后, 十字交叉法测量菌落直径, 计算菌丝生长的抑制率和有效抑制中浓度 EC_{50} 。菌丝生长抑制率 = (对照组菌落直径 - 药剂处理组菌落直径)/对照组菌落直径 $\times 100\%$ 。同时, 比较分析安徽省 15 个地区 *R. solani* 群体对吡唑醚菌酯的敏感性差异, 并计算不同地区菌株个体间的变异系数, 菌株间变异系数 = EC_{50} 最大值/ EC_{50} 最小值。根据 FRAC 关于植物病原菌对杀菌剂敏感性的划分方法, 将供试菌株的 EC_{50} 与敏感基线相比, 比值 ≤ 5 为敏感菌株, $5 < \text{比值} \leq 10$ 为低抗菌株, $10 < \text{比值} \leq 40$ 为中抗菌株, 比值 > 40 为高抗菌株[10]。

2.2.2. 水稻纹枯病菌对吡唑醚菌酯敏感基线的建立

将供试 *R. solani* 群体对吡唑醚菌酯的 EC_{50} 从低到高排列, 以 $0.2\ \mu\text{g/mL}$ 为区间间隔将其分区间, 统计各菌株 EC_{50} 在各个区间的出现频率。绘制吡唑醚菌酯对 94 株 *R. solani* 菌株的毒力频率分布图, 并对各区间的频率值进行 Shapiro-Wilk 正态性检验, 若符合正态分布, 则可将供试菌株对吡唑醚菌酯的 EC_{50} 平均值作为安徽省水稻纹枯病菌对吡唑醚菌酯的敏感基线[11]。

2.2.3. 吡唑醚菌酯与不同杀菌剂间的交互抗性

从郎溪、凤阳、蚌埠选取 2 株, 其余各地随机选取 3 株水稻纹枯病菌菌株, 共 42 株, 按 2.2.1 方法分别测定各菌株对井冈霉素、噻呋酰胺和丙硫菌唑的敏感性, 并计算各菌株对各药剂的 EC_{50} 。井冈霉素的最终 PDA 含药浓度为 $0.2\ \mu\text{g/mL}\sim 5\ \mu\text{g/mL}$ 等 5 个浓度梯度。噻呋酰胺的最终 PDA 含药浓度为 $0.05\ \mu\text{g/mL}\sim 1\ \mu\text{g/mL}$ 等 5 个浓度梯度, 丙硫菌唑的最终 PDA 含药浓度为 $0.05\ \mu\text{g/mL}\sim 8\ \mu\text{g/mL}$ 等 5 个浓度梯度。以吡唑醚菌酯的 EC_{50} 对数值($\lg\text{EC}_{50}$)为横坐标轴, 分别以其它杀菌剂的 EC_{50} 对数值($\lg\text{EC}_{50}$)为纵坐标作散点图。通过吡唑醚菌酯与其它杀菌剂间的相关性判断两类药剂间有无交互抗性, 当相关系数 $r > 0.6$ 且 $P < 0.05$ 时, 说明两者之间存在正交互抗性[12]。

3. 结果与分析

3.1. 水稻纹枯病菌对吡唑醚菌酯敏感性

供试 94 株 *R. solani* 菌株对吡唑醚菌酯的 EC_{50} 为 0.0409~1.2266 $\mu\text{g/mL}$ ，平均值为 0.2721 $\mu\text{g/mL}$ (表 1)，结果表明，同一县市菌株对吡唑醚菌酯的敏感性差异较大。其中，宁国的菌株对吡唑醚菌酯的敏感性差异最大，其 EC_{50} 最大值和最小值之间的比值为 8.6944，其次为望江，比值 5.4344。而蚌埠菌的敏感性差异最小， EC_{50} 值最大值和最小值的比值为 1.1931。其余地区 EC_{50} 值的最大值和最小值的比值范围为 1.7482~4.7034。除望江和凤阳的外，其余 13 个地区的 *R. solani* 菌株对吡唑醚菌酯的敏感性并无显著差异。

Table 1. Sensitivities of pyraclostrobin to *R. solani* from different regions in Anhui province

表 1. 安徽省不同地区水稻纹枯病菌对吡唑醚菌酯的敏感性

| 采集地 Location | 菌株数 Isolate number | EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) | EC_{50} (MAX.)/ EC_{50} (MIN.) | EC_{50} 平均值 Average of EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) | EC_{50} 平均值/敏感基线 Average of EC_{50} /sensitivity baseline |
|--------------|--------------------|--------------------------------|---------------------------------------|---|---|
| 巢湖 Chaohu | 5 | 0.1342~0.4104 | 3.0581 | (0.2479 \pm 0.1268) c | 1.0235 |
| 郎溪 Langxi | 2 | 0.1803~0.3152 | 1.7482 | (0.2477 \pm 0.0954) c | 1.0227 |
| 凤台 Fengtai | 4 | 0.0631~0.2729 | 4.3249 | (0.2071 \pm 0.0968) c | 0.8551 |
| 绩溪 Jixi | 6 | 0.1313~0.5580 | 4.2498 | (0.3130 \pm 0.1885) bc | 1.2923 |
| 休宁 Xiuning | 13 | 0.0552~0.2256 | 4.0870 | (0.1400 \pm 0.0537) c | 0.5780 |
| 庐江 Lujiang | 8 | 0.1339~0.3263 | 2.4369 | (0.2149 \pm 0.0666) c | 0.8873 |
| 宁国 Ningguo | 9 | 0.0409~0.3556 | 8.6944 | (0.2129 \pm 0.1157) c | 0.8790 |
| 颍上 Yinshang | 5 | 0.1345~0.2788 | 2.0729 | (0.2122 \pm 0.0580) c | 0.8761 |
| 和县 Hexian | 6 | 0.1639~0.4642 | 2.8322 | (0.2886 \pm 0.1160) bc | 1.1916 |
| 广德 Guangde | 6 | 0.0880~0.2004 | 2.2773 | (0.1301 \pm 0.0511) c | 0.5372 |
| 无为 Wuwei | 7 | 0.2423~0.7614 | 3.1424 | (0.3760 \pm 0.1773) abc | 1.5524 |
| 贵池 Guichi | 6 | 0.0662~0.2125 | 3.2100 | (0.1309 \pm 0.0630) abc | 0.5405 |
| 蚌埠 Bengbu | 2 | 0.3501~0.4121 | 1.1931 | (0.3811 \pm 0.0438) c | 1.5735 |
| 望江 Wangjiang | 13 | 0.2256~1.2260 | 5.4344 | (0.5313 \pm 0.2678) a | 2.1936 |
| 凤阳 Fengyang | 2 | 0.1787~0.8405 | 4.7034 | (0.5096 \pm 0.4680) ab | 2.1040 |

利用 SPSS 软件将随机选取的来自安徽省各地的 42 株菌株对吡唑醚菌酯的 EC_{50} 值进行系统聚类分析。由图 1 可知：吡唑醚菌酯对所选菌株的 EC_{50} 值被分成 4 个聚类组，第一组有 39 株菌株，剩余三组均只有 1 株菌株，分别为 HXXBXQZ2，AHFY2 和 AHWJ5。结果表明，只有和县，望江，凤阳的菌株均被分在了不同的聚类组，其余 12 地菌株都被规在了第一组。不同地理来源的菌株被归在了同一聚类组中，说明安徽省 *R. solani* 对吡唑醚菌酯的敏感性和地理来源之间有相关性。

3.2. 水稻纹枯病菌对吡唑醚菌酯敏感基线

供试 94 株 *R. solani* 菌株对吡唑醚菌酯的敏感性接近连续分布，仅有 4 株菌株的 EC_{50} 值偏高。 EC_{50} 最大值和 EC_{50} 最小值分别为 1.2266 $\mu\text{g/mL}$ 和 0.0409 $\mu\text{g/mL}$ ，相差约 30 倍，说明安徽省水 *R. solani* 对吡唑醚菌酯的敏感性差异明显，平均 EC_{50} 值为(0.2721 \pm 0.1939) $\mu\text{g/mL}$ 。将 *R. solani* 对吡唑醚菌酯的 EC_{50} 值分组，以 0 $\mu\text{g/mL}$ 为下限，1.4 $\mu\text{g/mL}$ 为上限，分为 10 组，分别统计各组的菌株频率，使用 Origin 2018

绘制 *R. solani* 对吡唑醚菌酯的敏感性频率分布图(图 2)。通过 DPS 软件进行正态性分布检验, 结果显示, 其敏感性分布频率呈近似正态分布($W = 0.9652$, $P = 0.08119 > 0.05$), 故将这 94 株菌株的平均 EC_{50} 值 (0.2721 ± 0.1291) $\mu\text{g}/\text{mL}$ 作为安徽省 *R. solani* 对吡唑醚菌酯的敏感基线。结果表明, 所有菌株的抗性比值均低于 5, 安徽省 *R. solani* 对吡唑醚菌酯有较高的敏感性。

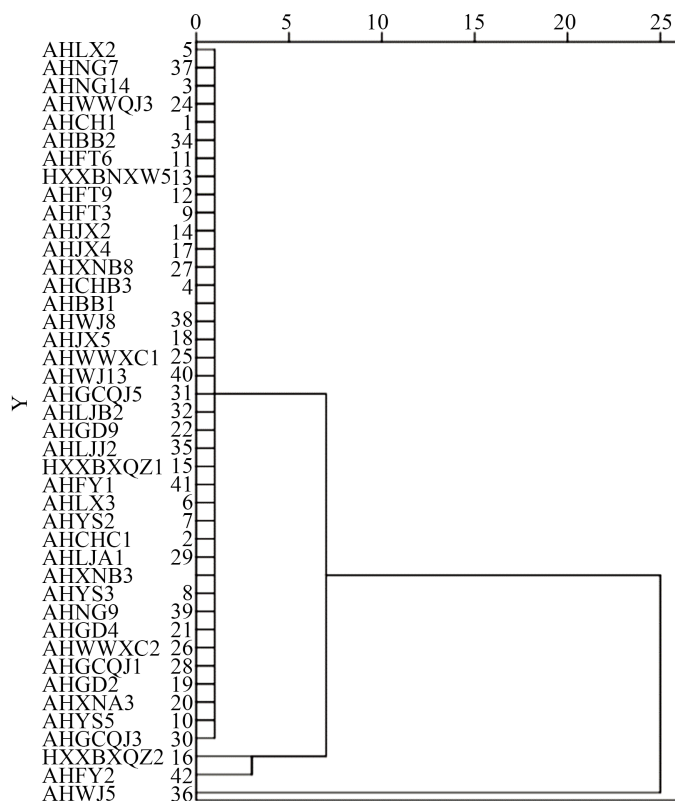


Figure 1. Hierarchical cluster analysis of EC_{50} values of pyraclostrobin to *R. solani*

图 1. 水稻纹枯病菌对吡唑醚菌酯 EC_{50} 值的系统聚类分析

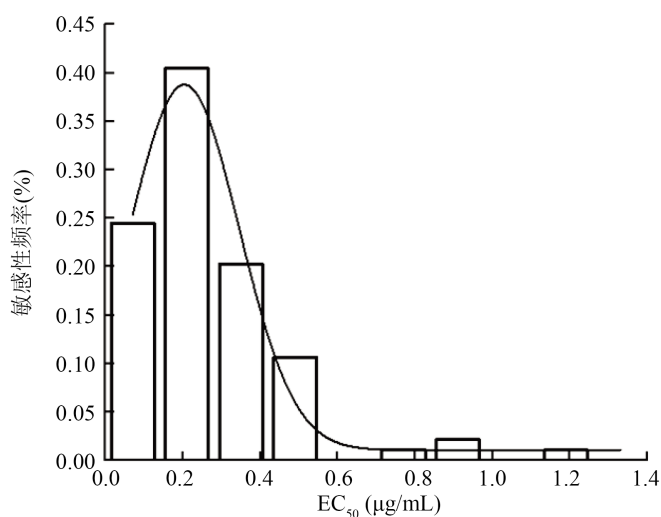


Figure 2. Frequency distributions of sensitivities of *R. solani* to pyraclostrobin

图 2. 水稻纹枯病菌对吡唑醚菌酯的敏感性频率分布

3.3. 吡唑醚菌酯与其它杀菌剂间的交互抗性

相关分析结果表明,吡唑醚菌酯与噻呋酰胺($R^2 = 0.0684$, $P = 0.163$)、丙硫菌唑($R^2 = 0.0541$, $P = 0.216$)和井冈霉素($R^2 = 0.0261$, $P = 0.394$)之间均无交互抗性(图 3)。在生产中可交替使用,以延缓抗药性的产生。

4. 讨论

本研究结果表明,供试安徽省 *R. solani* 菌株对吡唑醚菌酯的 EC_{50} 介于 0.0409~1.2266 $\mu\text{g/mL}$ 之间,平均值为 0.2721 $\mu\text{g/mL}$,与孙雪[13]和刘世江等[9]的测定结果相近,其敏感性频率符合正态分布,因此可将 EC_{50} 平均值 0.2721 $\mu\text{g/mL}$ 作为安徽省 *R. solani* 对吡唑醚菌酯的敏感基线[11];与所建立的敏感基线相比,所有供试菌株的抗性倍数均低于 5,表明安徽省 *R. solani* 对吡唑醚菌酯有较高的敏感性。本研究所建立的安徽省 *R. solani* 对吡唑醚菌酯的敏感基线,可为吡唑醚菌酯的田间抗药性监测提供科学依据。

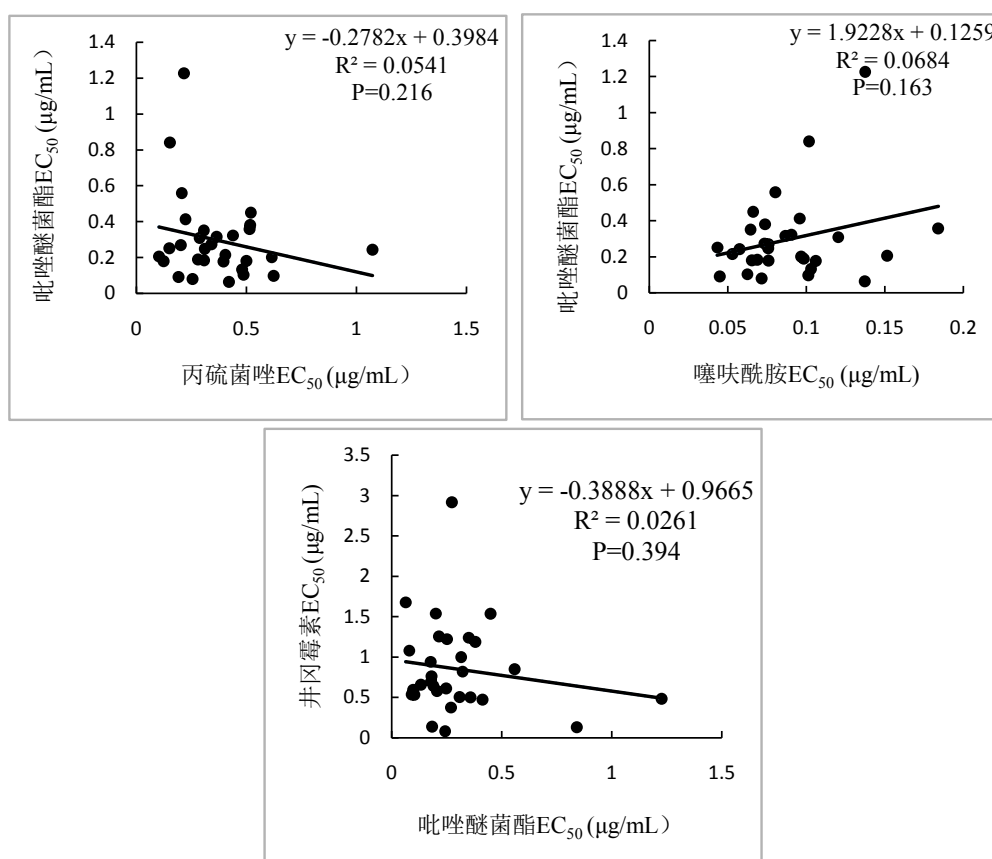


Figure 3. Cross-resistance between pyraclostrobin and different fungicides
图 3. 吡唑醚菌酯与不同杀菌剂的交互抗性

本研究结果表明,安徽省不同地区 *R. solani* 群体对吡唑醚菌酯的敏感性无显著差异,但是进一步比较分析发现安徽省不同地区供试菌株个体间对吡唑醚菌酯的敏感性差异明显,同一县市菌株对吡唑醚菌酯的敏感性存在较大差异。其中,宁国的菌株差异最大,其 EC_{50} 最大值和最小值之间的比值为 8.6944,其次为望江,比值 5.4344。而蚌埠菌株的敏感性差异最小, EC_{50} 值最大值和最小值的比值为 1.1931。推测安徽省水稻纹枯病菌田间菌株存在天然的耐药个体,也可能是水稻纹枯病菌对生产上施用的其它杀菌剂产生了微弱的交互抗性。因此,在安徽省应用吡唑醚菌酯防治水稻纹枯病时应重视田间抗药性监测。

本研究表明吡唑醚菌酯与噻呋酰胺、丙硫菌唑和井冈霉素之间均不存在交互抗性。吡唑醚菌酯分子结构复杂, 杀菌谱广, 对环境和使用者友好, 残留量低。大量研究表明吡唑醚菌酯单独使用和与其他杀菌剂或肥料混用对真菌病害的防效良好, 具有增产保健的作用[8]。为提高防效和延缓抗药性, 可将吡唑醚菌酯与不同作用机制的杀菌剂进行混用或交替使用。

基金项目

安徽省科技重大专项(201903b020008)、省重点研发计划(1804a07020139)、国家重点研发计划(2016YFD0200806)。

参考文献

- [1] Ghosh, S., Mirza, N., Kanwar, P., *et al.* (2019) Genome Analysis Provides Insight about Pathogenesis of Indian Strains of *Rhizoctonia solani* in Rice. *Functional & Integrative Genomics*, **19**, 799-810. <https://doi.org/10.1007/s10142-019-00687-y>
- [2] Savary, S. (1995) Direct and Indirect Effects of Nitrogen Supply and Disease Source Structure on Rice Sheath Blight Spread. *Phytopathology*, **85**, 959-965. <https://doi.org/10.1094/Phyto-85-959>
- [3] Slaton, N.A., Cartwright, R.D., Meng, J., *et al.* (2003) Sheath Blight Severity and Rice Yield as Affected by Nitrogen Fertilizer Rate, Application Method, and Fungicide. *Agronomy Journal*, **95**, 1489-1496. <https://doi.org/10.2134/agronj2003.1489>
- [4] 常望霓. 水稻纹枯病防治药剂的筛选及田间防效[D]: [硕士学位论文]. 长沙: 湖南农业大学, 2011.
- [5] Mu, W., Wang, Z., Bi, Y., *et al.* (2017) Sensitivity Determination and Resistance Risk Assessment of *Rhizoctonia solani* to SDHI Fungicide Thifluzamide. *Annals of Applied Biology*, **170**, 240-250. <https://doi.org/10.1111/aab.12334>
- [6] 齐永志, 李海燕, 苏媛, 等. 小麦纹枯病菌对噻呋酰胺的敏感性及其抗药性突变体的主要生物学性状[J]. 农药学报, 2014, 16(3): 271-280.
- [7] 梁梦琦. 长江中下游稻区稻瘟病菌对稻瘟灵和吡唑醚菌酯的抗性监测[D]: [硕士学位论文]. 北京: 中国农业科学院, 2018.
- [8] 杨丽娟, 柏亚罗. 甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂——吡唑醚菌酯[J]. 现代农药, 2012, 11(4): 46-50+56.
- [9] 刘世江, 丁怡, 赵琪君, 等. 贵州省水稻纹枯病菌对丙环唑和吡唑醚菌酯的敏感性[J]. 福建农业学报, 2019, 34(11): 1294-1301.
- [10] 毕秋艳, 马志强, 韩秀英, 等. 不同机制杀菌剂对小麦白粉病的敏感性及其与三唑酮的交互抗性[J]. 植物保护学报, 2017, 44(2): 331-336.
- [11] Russell, P.E. (2004) Sensitivity Baselines in Fungicide Resistance Research and Management. FRAC Monograph, No. 3, RAC, Brussels, Belgium: AIMPRINT.
- [12] Zhou, Y.X., Chen, L., Hu, J., Liu, P.F., Zhang, Y., Meng, Q.X., Li, B., Si, N.G., Liu, C.L. and Liu, X.L. (2016) Asepline Sensitivity of Natural Population and Resistance Risk of *Peronophythora litchii* to Four Novel QoI Fungicides. *European Journal of Plant Pathology*, **146**, 71-83. <https://doi.org/10.1007/s10658-016-0893-y>
- [13] 孙雪. 水稻纹枯病的防治技术研究[D]: [硕士学位论文]. 长春: 吉林农业大学, 2015.